

氏名	辛 玲夏
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3415号
学位授与の日付	平成19年 3月23日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on estrogen receptor expression in the bursa of Fabricius of chick embryos (ニワトリ胚のファブリシウス嚢におけるエストロジェン受容体発現に関する研究)
論文審査委員	教授 近藤 康博 教授 奥田 潔 助教授 阿部 浅樹

学位論文内容の要旨

本研究は、鶏胚のBFにおけるERの存在とその意義を明らかにする目的で行われた。鶏胚に適用されたエストロジェンは孵化後のヒナの抗体産生に影響を与えることが報告されている。また、抗体産生に貢献するBリンパ球は鳥類特有のリンパ器官であるファブリシウス嚢で分化・造成されることから、鶏胚のファブリシウス嚢(BF)へのエストロジェンの作用が示唆されている。しかし、鶏胚のBFにおけるエストロジェン受容体(ER)の存在に関しては明確な結論が得られてはいない。そこで、ニワトリERのcDNAの配列からデザインされたプライマーによるRT-PCRによって、陽性対照である雌性生殖器とともに、BFや培養BF上皮細胞にはER α -mRNAが発現について明らかにした。

そして、後期鶏胚におけるER α -mRNAの発現量とER α 陽性細胞数は大きく変動しており、ER α -mRNAの発現量は10日胚から12日胚では極めて低かったが、13日胚で大きく上昇し、15日胚で最大値に達した。ER α 陽性細胞はBFのリンパ球、間質、上皮細胞層のいずれにも観察され、いずれの胚齢においても上皮細胞層における密度が最も高かった。これらの組織成分におけるER α 陽性細胞数はER α 陽性細胞総数と同様の経時的変化を示した。

ER α の発現が上昇する時期(15日胚から17日胚)のBFにおけるER発現に対する外因性のエストロジェンの作用を明らかにするために、13日胚から18日胚齢の発育鶏卵を0.5%と1.0%の β -エストラジオール(E2)溶液に5秒間浸漬することによってエストロジェン処理して4時間後にBF内のER α 陽性細胞数を求めた。

鶏胚のBFにおけるERの存在およびそれらの生理的意義は、鶏胚にエストロジェンが存在することを前提としている。コルチコイドは鶏胚のBF内で合成されてBF内に存在していることが報告されており、エストロジェンも胚のBFで合成されている可能性がある。鶏胚のBFにおける性ステロイド合成の可能性を明らかにするために、鶏胚のBFにおける5つの性ステロイド合成酵素(P450 $_{sc}$, P450 $_{c17}$, 3 β -HSD, 17 β -HSDおよびAromatase)のmRNA発現について調べた。

以上の結果から、鶏胚のBFにはER α が発現しており、この発現の程度は特定の胚期のBFにおいて高いこと、また、外因性のE2がこの時期のBFにおけるER発現を上昇させること、さらには、鶏胚のBFには性ステロイドの合成に関与する酵素のmRNAが発現していることから、鶏胚のBFに存在するERはなんらかの生理的な役割を演じていると考えられる。

論文審査結果の要旨

ファブリシウス嚢(BF)は鳥類特有のリンパ器官として鳥類のB細胞分化に関与している。鶏胚へのエストロゲン処理は孵化後のヒナの抗体産生に影響を及ぼすことから、鶏胚のBFへのエストロジェンの作用が示唆されている。しかし、BFにおけるエストロゲン受容体(ER)の存在はいまだ明確には示されていない。そこで、本研究では、ヒナや鶏胚のBFにおけるER発現の実態をER-mRNA発現と抗ER抗体を用いた免疫組織化学によって明らかにするとともに、外因性のエストロゲンが鶏胚のBFのER発現に与える影響、さらには、鶏胚のBFにおけるステロイドホルモン合成に関与する5種の酵素のmRNA発現について追究して、鶏胚のBFにおけるERの意義を明らかにしようとした。BFでは、ER α -mRNAの発現は認められたが、ER β -mRNAは観察されなかった。鶏胚では、ER α -mRNA発現は13日齢から16日齢で他の時期に比較して有意に高かった。一方、ER α 陽性細胞は15日から17日胚で有意に高かった。ER α 発現が高い胚期における外因性のエストロゲンはBFのER α 発現を有意に上昇させ、この効果は発現が上昇する時期において特に顕著であった。ステロイド合成に関与する5種類の酵素のmRNA発現はすべて後期胚のBFにおいて検出された。さらに、これらの酵素のうち3種の酵素のmRNA発現が高い時期は、BFにおいてER発現が高い時期に一致した。以上の結果は、1)エストロゲンが胚期のBFERを介して作用すること、2)エストロゲンは胚のBF、特に後期胚の特定時期において、なんらかの生理的な役割を演じていること、3)エストロゲンは鶏胚のBFにおいて局所調節機構によって機能する可能性があることを示している。これらの結果は、これまで不明確であった鶏胚のBFにおけるB細胞分化におけるエストロジェンの役割を強く示唆するものであり、本研究の内容は博士の学位に十分値するものと考えられる。